

MANUAL DE USO

One-Step RT-qPCR

Catalog number/SKU: 24200, 24300

DESCRIPCIÓN DE PRODUCTO

Nuestro One-Step RT-qPCR está diseñado para optimizar los ensayos cuantitativos y el perfilado de expresión génica mediante un protocolo unificado que consolida la transcripción reversa y la amplificación en un solo paso. Este kit ofrece una precisión constante en ciclos prolongados y matrices desafiantes, logrando una cuantificación lineal y altamente sensible con muestras de ARN y ADN.

APLICACIONES DEL PRODUCTO

- Detección y cuantificación de patógenos de ARN.
- Análisis de expresión génica y cuantificación de mRNA.
- Control de calidad e inocuidad alimentaria y ambiental

ENVÍO Y ALMACENAMIENTO

El Kit One-Step RT-qPCR está diseñado para ser transportado a una temperatura de 2–8 °C sin pérdida de rendimiento por hasta 7 días.

Recomendaciones de almacenamiento:

- Almacenar a –20 °C inmediatamente tras su llegada.
- Evitar ciclos repetidos de congelación y descongelación.
- No utilizar componentes dañados o vencidos. Si ocurren daños durante el envío, comuníquese con el soporte técnico de Kura Biotech en sales@kurabiotech.com

Componentes	Volumen 200 rxn (SKU 24200)	Volumen 1000 rxn (SKU 24300)	T° Almacenamiento
20X RT Enzyme	200 µL	1 mL	–20°C
2X Mastermix	2 x 1 mL	2 x 5 mL	
Nuclease-free water	1,5 mL	2 x 5 mL	
20X ROX Low	200 µL	1 mL	

RECETA PCR ESTÁNDAR

Calcule el volumen de reactivos necesarios para cada reacción. Típicamente, las reacciones se preparan en volúmenes de 20 µL.

Componentes	20 µL reacción	Concentración Final
2X Mastermix	10 µL	1X
RT Enzyme 20X	1 µL	1X
20X ROX Low	1 µL	1X
Cebador Directo (10 µM)	0,8 µL	0,4 µM
Cebador Reverso (10 µM)	0,8 µL	0,4 µM
Sonda (5 µM)	0,8 µL	0,2 µM
Templado	variable*	–
Nuclease-free water	Hasta 20 µL	–

***Templado:** En muestras de baja pureza o matrices difíciles, se recomienda diluir la muestra para evitar la concentración de inhibidores.

PREPARACIÓN DEL PCR

- 1) Determina el volumen total apropiado para el número de reacciones. Añade todos los componentes y el templado al final en un tubo o placa de PCR estéril y homogeniza resuspendiendo con la pipeta. Centrifuga suavemente para recolectar todo el líquido en el fondo del tubo
- 2) Sella los tubos con tapas ópticas transparentes o las placas de PCR con film óptico transparente, asegurándose de sellarlas correctamente para prevenir la evaporación.
- 3) Centrifuga suavemente los tubos o las placas para remover las burbujas antes de colocarlos en el termociclador.

PROGRAMA DE CICLADO DE PCR

Paso	Temperatura	Tiempo	Ciclos
Paso RT	55°C	5 min	1
Denaturación inicial	95°C	2 min	1
Denaturación	95°C	15 seg	45
Alineamiento/Extensión	60°C**	30 seg	

**Asegúrate de que la temperatura de alineamiento corresponda a la T_m de tus primers. Usa un protocolo de 2 pasos si la T_m es >58 °C, combinando alineamiento y extensión en un mismo paso como se expone en la tabla; si la T_m es <58 °C, utiliza un protocolo de 3 pasos, con un paso de alineamiento a la T_m de los primers, seguido de una extensión a 72 °C.